Ueber den

Bau und die Bestandtheile der Chlorophyllkörner

der

Angiospermen.

Inaugural-Dissertation

der

Mathematischen und naturwissenschaftlichen Facultät

der

Kaiser Wilhelms-Universität Strassburg

zur

Erlangung der Doctorwürde

vorgelegt von

Arthur Meyer

aus Sondershausen.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Mit einer lithographirten Tafel.

1883.

Separatabdruck des zweiten Abschnittes der bei Arthur Felix in Leipzig erschienenen Abhandlung des Verfassers: »Das Chlorophyllkorn in chemischer, morphologischer und biologischer Beziehung«.

Seinen hochverehrten Lehrern

Herrn

PROFESSOR DR. A. DE BARY

und Herrn

PROFESSOR DR. FLÜCKIGER

in treuer Dankbarkeit

gewidmet

vom

Verfasser.

Nur die Chlorophyllkörner enthaltenden Pflanzenzellen sind im Stande die Kohlensäuremoleküle, welche in ihren Körper gelangen, festzuhalten, den ganzen Kohlenstoff derselben zu binden und eine dem ganzen Sauerstoffgehalte des Kohlensäuremolekül gleiche Menge Sauerstoff wieder auszuscheiden.

Wenn auch für die vielfach festgehaltene Annahme, es seien die Chlorophyllkörner die Organe der Zelle, in denen sich der Process der Kohlenstoffassimilation abspiele, keine irgendwie zwingenden Beweise vorgebracht werden können, so spricht doch die obige Thatsache dafür, dass die Chlorophyllkörner eine wichtige Rolle bei dem Vorgange der Kohlenstoffassimilation spielen.

Stellt man sich mehr oder weniger auf den Standpunkt der erwähnten Hypothese, so wird die Frage leicht wachgerufen, welche Eigenschaften die Chlorophyllkörner befähigen, mit der Assimilation zusammenhängende Leistungen zu übernehmen.

Als eine in dieser Richtung unternommene Vorarbeit mag die folgende Abhandlung betrachtet werden; denn um der in Rede stehenden Frage mit Erfolg näher treten zu können, wird es zweckmässig sein, die Chlorophyllkörner in morphologischer Beziehung gründlich zu studiren. Und dazu müssen wir zuerst untersuchen, ob sich vielleicht eine feine Differenzirung sehen lässt, dann müssen wir versuchen die chemischen Bestandtheile im allgemeinen und womöglich die chemische Beschaffenheit der einzelnen eventuell unterscheidbaren differenten Partien des Chlorophyllkornes zu ergründen.

Allerdings ist damit wahrscheinlich die morphologische Aufgabe noch nicht erschöpft; denn es ist sehr leicht möglich, dass in allen Theilen der Chlorophyllkörner ausser der chemischen Structur der die differenten Partien der Chlorophyllkörner aufbauenden Moleküle noch eine andere, wir wollen sagen physikalische Structur, von grösster Bedeutung ist, die wir mit unseren jetzigen Instrumenten nicht erforschen können, und welche in ähnlicher Weise gedacht werden kann, wie die gesetzmässige Structur, welcher die Krystalle viele ihrer Eigenschaften verdanken.

Wir wollen in dem folgenden Aufsatze das bis jetzt über die Morphologie der Chlorophyllkörner der Angiospermen Bekannte zusammenstellen, kritisch beleuchten und weiter zu führen versuchen.

An eine Erschöpfung des Thema ist selbstverständlich bei den geringen Kenntnissen, die bisher über diesen Gegenstand vorlagen, nicht zu denken, um so mehr, da jeder Schritt zur weiteren Erkenntniss auf diesem Gebiete viel Zeit erfordert und mit vielen Schwierigkeiten verknüpft ist.

Erwähnt sei noch, dass der in dieser Abhandlung gebrauchte Ausdruck »Autoplast« gleichbedeutend mit Chlorophyllkorn ist. Ueber die Berechtigung und Zweckmässigkeit dieser neuen Bezeichnung werde ich an anderer Stelle Rechenschaft geben.

Seit 1837, seit der Zeit, in welcher Mohl (18) [1]) aussprach, dass die Chlorophyllkörner aus einer mit Jod sich gelb färbenden, immer vorhandenen, in Alkohol und Aether unlöslichen, die Form des Chlorophyllkornes bestimmenden (»einer Proteinverbindung?«) und einer grün gefärbten, in Alkohol und Aether auflöslichen Substanz beständen, haben sich unsere Kenntnisse über die chemischen Individuen, welche das Chlorophyllkorn aufbauen, in nicht gerade hervorragender Weise bereichert.

1) Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf das am Ende der Abhandlung gegebene Literaturverzeichniss.

Nur die bestimmt formulirte Anschauung Sachs', dass die Grundmasse aller Autoplasten als Protoplasma aufzufassen sei, welche derselbe zuerst 1862 (20, p. 133) aussprach und später (21, p. 193) durch eine Reihe von Reactionen zu stützen suchte, hat dazu beigetragen, dass man sich diese Grundmasse mehr und mehr als eine fein organisirte Substanz dachte, und so unsere Vorstellungen über die Natur der Chlorophyllkörner wohl der Wahrheit näher gebracht.

In Bezug auf den Bau der Chlorophyllkörner beschäftigte ferner eine Zeit lang die Frage, ob die Chlorophyllkörner eine Membran besässen, die Forscher, bis Mohl, sich hauptsächlich gegen Nägeli, welcher die Chlorophyllkörner als Bläschen betrachtete, wendend, vorzüglich in einem Aufsatze (19), welcher 1855 erschien, nachwies, dass die Autoplasten membranlos seien.

Ich habe die Frage nochmals geprüft und bei der Untersuchung der Wirkung des Wassers auf die Chlorophyllkörner auch darauf geachtet, ob das umgebende Protoplasma an den Stellen, welche die Chlorophyllkörner berühren, eine dichtere Structur besitzt, jedoch mich schliesslich überzeugt, dass auch hier kein Unterschied zwischen der Beschaffenheit der dem Chlorophyllkorne direct anliegenden Protoplasmapartieen und zwischen etwas weiter vom Autoplasten entfernten zu constatiren ist, so dass das Chlorophyllkorn vom Protoplasma umflossen erscheint, welches bei einer vom Autoplasten ausgehenden Vacuolenbildung oder bei einer Quellung des Chlorophyllkornes passiv zusammengedrückt wird, seinerseits aber auch bei einer in ihm vor sich gehenden Contraction einen Druck auf das Chlorophyllkorn ausübt, bei seiner Quellung sich von dem Autoplasten entfernt, wenn der letztere selbst seine Grösse nicht ändert. Die stark lichtbrechende Haut, welche sich bei der Quellung des Protoplasma von dem Chlorophyllkorne abhebt, ist ein Kunstproduct und in der intacten Zelle nicht vorhanden. Wäre sie eine ursprünglich vorhandene Hülle dichteren Plasmas, so müsste sie bei einer durch die Quellung des umgebenden Plasma oder durch endosmotische Wirkungen erfolgenden Ausdehnung dünnwandiger werden, was nicht stattfindet.

Auch bezüglich der Thatsache, dass im Autoplasten geformte Körper vorkommen, welche sich durch ihre chemischen und physikalischen Reactionen von der grünen Substanz des Chlorophyllkornes unterscheiden, hat Mohl die wichtigsten Mittheilungen gemacht. Ausser der Stärke, dem verbreitetsten dieser in Körnerform vorkommenden Körper, wurden hauptsächlich von diesem Forscher auch körnige Einschlüsse anderer Natur im Chlorophyllkorne erkannt. Er spricht an einer Stelle (19, p. 110) klar aus, dass die kleinen Körnchen, welche häufig in stärkefreien Chlorophyllkörnern vorkommen, und welche er früher für Stärke gehalten hätte, keine Stärke seien, da sie sich durch Jod bräunten, und führt *Clivia nobilis* als eine Pflanze an, in welcher diese Körnchen schön ausgebildet vorkommen. Ebenso hat Böhm (27) 1856 diesen Körnern einige Aufmerksamkeit geschenkt, allerdings leider in seiner Darstellung die Angaben höchst allgemein und unklar gehalten und keine speciellen Beispiele beschrieben. Bei der guten Methode, welche Böhm zum Nachweis der Stärke benutzte, sind aber seine Angaben immer zu berücksichtigen, da eine Verwechselung der Körner mit Stärkekörnchen, wie sie bei Mohl noch vorkommen konnte, bei Böhm ausgeschlossen ist. Böhm unterscheidet Chlorophyllkörner, deren Einschlüsse sämmtlich Amylum sind, solche welche Amylumkörner und andere Körnchen enthalten (wofür er kein Beispiel anführt) und solche Autoplasten, welche nur Körnchen anderer Natur einschliessen. Amylumfrei sind z. B. nach Böhm *Asphodelus luteus*, *Allium fistulosum*, *Orchis militaris*, *Lactuca sativa*. Dabei gibt Böhm an, dass die stärkefreien Autoplasten immer Körnchen enthalten (27, p. 506) und führt als Beispiel für ein stärkefreies Chlorophyllkorn, welches Körnchen führt, *Asphodelus luteus* an, wenn ich den Sinn der Stelle recht verstehe. [Hofmeister fasst den Sinn dieser Stelle wie ich auf, Sachs (23, p. 326) versteht dieselbe anders.]

Ueber die chemische Natur der Nichtamylumkörnchen sagt Böhm folgendes (27, p. 500):

»Die chemische Natur dieser kleinen Nichtamylumkörnchen muss für jetzt dahingestellt bleiben; vielleicht sind sie dem Inulin, vielleicht dem Paramylum verwandt. Sie sind unlöslich in

Wasser, unveränderlich in mässig concentrirter Schwefelsäure. Ein in Weingeist ausgezogenes Blatt von *Lilium Martagon* und *Asphodelus luteus* zeigte selbst nach vierwöchentlicher Behandlung mit dieser Säure die der Form nach fast unveränderten Chlorophyllkörner. Durch längeres Liegen der Blätter in Kalilauge werden die Körnchen zerstört«.

1858 hat Nägeli bei *Rhipsalis funalis* Salm (23, p. 400) ausser den 2—6 Stärkeeinschlüssen und zugleich mit diesen in jungen Chlorophyllkörnern 4—8 relativ grosse (Tf. XX, Fig. 53, 55, 56), stark lichtbrechende Kugeln gefunden, welche nach 24stündigem Liegen in absolutem Alkohol verschwinden. Wasserreiche Jodtinctur färbte sie gelblich (23, p. 54). Diese Oeltröpfchen, wie sie Nägeli nennt, werden später nach aussen gedrängt und bilden rundliche Anhänge mit dunkelen Conturen.

Oeltröpfchen allein gibt Nägeli für die Chlorophyllkörner der subepidermalen Zellschicht des Stengels von *Cereus variabilis* an. Diese Autoplasten enthalten 4—20 glänzende Kügelchen, welche sich bei Behandlung mit absolutem Alkohol, der die Chlorophyllkörner entfärbt, lösen. Man erkennt dies erst nach Behandlung der mit Alkohol extrahirten Körner mit Wasser. Statt der Körner sieht man röthlich (?) erscheinende Höhlungen. Jod gibt keine Violett- oder Blaufärbung.

Sachs hat nun ferner 1862 (20) die damals über die Einschlüsse der Chlorophyllkörner bekannten Daten zusammengefasst und sagt (20, p. 166): »Nach dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse können wir dreierlei Einschlüsse in den Chlorophyllkörnern annehmen,

1) Körner von unbekannter Natur (bei *Allium*, *Asphodelus* nach Böhm);
2) Stärkekörner (in den allermeisten Fällen);
3) Oeltröpfchen nach Nägeli.

Nägeli's Angaben über das Vorkommen von Oeltröpfchen in Chlorophyllkörnern verdienen weitere Aufmerksamkeit, weil sie zeigen, dass die Stärke schon am Orte ihrer ursprünglichen Entstehung durch fettes Oel vertreten werden kann, wie bei dem Reifen vieler Samen, wo die Stärke erst zuletzt in Oel übergeht, während umgekehrt das Oel bei der Keimung wieder in Stärke umgewandelt wird«.

Die Hypothese Nägeli's, dass die Körner Oel seien, hat also hier durch Sachs eine Erweiterung erfahren, indem Sachs annimmt, dass das hypothetische Oel »fettes Oel« ist, und dass es dieselbe Beziehung zu den Autoplasten hat wie die Stärke.

Ausser den genannten Körpern führt übrigens Sachs (20, p. 166) noch eine weitere Substanz, als in den Autoplasten vorkommend, an. Er sagt: »Auch ich fand im Chlorophyll der Spaltöffnungszellen an den Cotyledonen von *Acer Pseudoplatanus* Körner, welche nach meiner Behandlung (verbesserte Böhm'sche Stärke-Reaction) nicht blau, sondern roth wurden, also kein Amylum sein konnten. Die Nichtamylumkörnchen Böhm's werden von Hofmeister 1867 (16, p. 374) nochmals erwähnt. Sachs sagt 1865 (23, p. 326), dass bei *Allium Cepa* gar keine körnigen Einschlüsse vorkommen. Auch bei Weiss (44, p. 181), 1866, findet sich einiges über Körnchen der Autoplasten.

In neuerer Zeit (1873) hat Briosi in den Chlorophyllkörnern der Blätter von *Strelitzia*- und *Musa*-Arten, vorzüglich in älteren Blättern (53, p. 532), stark lichtbrechende Körnchen nachgewiesen. Er sagt von denselben (p. 532): »Die Chlorophyllkörner zeigen im Wasser gewöhnlich zuerst nur eine feine Punktirung, aber unter verlängerter Wirkung des Wassers deformirt sich zum Theil das Chlorophyll, die Körner verlieren mehr oder weniger ihre ursprüngliche Gestalt, und in denselben treten nun klar einige grosse, oder wenige kleine stark lichtbrechende Kügelchen hervor, viel schwächer gefärbt als die grüne Chlorophyllsubstanz, in welcher sie sich befinden. Setzt man absoluten Alkohol oder Aether zu, so lösen sich die im Zellenprotoplasma freiliegenden Oeltropfen, die Chlorophyllkörner entfärben sich und die inneren glänzenden Kügelchen erscheinen oft in grosser Zahl und sehr schön, um dann schliesslich ebenfalls zu verschwinden, wenn die

Wirkung des Reagens fortdauert«. Briosi findet also, dass die Körnchen der Chlorophyllkörner erst durch Wasser zum Vorschein kommen. Er erklärt sich diese Thatsache folgendermaassen (p. 546): »Es scheint, dass also hier das Oel zwischen den Protoplasma-Molekülen des Chlorophylls gleichmässig vertheilt ist, so dass die Chlorophyllkörner im normalen Zustande aus einer homogenen Masse bestehen, die nur, wenn sie mit Wasser (oder anderen passenden Reagentien) in Berührung kommt, das Oel frei in Tröpfchen zusammenfliessen lässt —«.

Dass man auch die von Briosi ziemlich vorsichtig, wenigstens in der Ueberschrift, als »fettartige Substanz« bezeichneten Körper sofort für ein echtes fettes Oel angesprochen hat, geht aus Holle's und Godlewski's Fragestellung (siehe auch Pringsheim 48, p. 91) hervor. Uebrigens hat Godlewski (54) nachgewiesen, dass neben dem sogenannten Oele auch Stärkekörner in den Chlorophyllkörnern der Musaceen auftreten, wenn die Verhältnisse für die Assimilation recht günstig liegen und Holle (55), dass die Körnchen nicht verschwinden, wenn man die Pflanze längere Zeit verdunkelt.

Das sind die Kenntnisse, welche wir über Bau und Bestandtheile der Autoplasten aus der älteren Literatur schöpfen können. In neuester Zeit haben hauptsächlich Frommann (22) und Pringsheim (24) sich mit dem Baue und den Bestandtheilen der Autoplasten beschäftigt.

Eine Besprechung von Frommann's Arbeiten wäre werthlos; sie sind ohne Kenntniss der gewöhnlichsten anatomischen Thatsachen und unter Anwendung einer aussergewöhnlichen Phantasie entstanden; wer sie lesen will, wird nach Pringsheim's und nach meinen Angaben die Thatsachen leicht wieder erkennen, welche Frommann zu seinen Anschauungen verleitet haben könnten. Die Vorstellungen, welche sich Pringsheim nach langer Beschäftigung mit den Autoplasten über deren Bau und Bestandtheile gebildet hat und die Beobachtungsmethoden, durch welche er zu diesen Anschauungen gelangt ist, müssen wir dagegen berücksichtigen.

Betrachten wir vorerst dasjenige aus Pringsheim's Abhandlung, was auf die Natur der den Autoplasten zusammensetzenden Körper Bezug hat, so sind zuerst einige von Pringsheim eingeführte Reactionsmethoden von Interesse für uns und sollen kurz besprochen werden.

Pringsheim lässt einmal feuchte Wärme auf intacte chlorophyllhaltige Zellen einwirken und bekommt dann, wenn eine bestimmte, für verschiedene Gewebe verschieden hohe Temperatur inne gehalten wird, stets eine Ausscheidung grün gefärbter, in Alkohol und Aether löslicher Tropfen aus den Autoplasten (24, p. 294). Ferner behandelt Pringsheim die Autoplasten mit verdünnter Salzsäure (oder wendet auch Mischungen von 1 Vol. [?] Pikrinsäure auf 3—6 Vol. Wasser, 1 Vol. Eisessig auf 2—4 Vol. Wasser, 1 Vol. Schwefelsäure auf 20—40 Vol. Wasser [24, p. 314 an]) und erhält dadurch folgende Reaction (24, p. 294). Die Autoplasten verändern zuerst ihre Farbe, dann scheiden sich unregelmässig geformte grüne oder bräunlichgrüne Tropfen aus, an welchen später, d. h. nach einigen Stunden bis nach mehreren Monaten, meist braun gefärbte krystallinische Massen auftreten, welche nach Pringsheim hier und da auch farblos werden können (24, p. 300); Aether, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Petroleumäther und Alkohol lösen dieselben; in Wasser sind sie unlöslich.

Die letztere Reaction, d. h. die Ausbildung der krystallinischen Massen durch Salzsäure, unterbleibt an den Autoplasten unter folgenden Umständen.

1) Wenn man die Zellen vorher mit Wasser auf eine für die verschiedenen Pflanzen verschiedene Temperatur erhitzt hat (24, p. 307);

2) wenn man die Autoplasten durch mittels einer Linse concentrirtes Sonnenlicht ganz oder nur halb gebleicht hat (24, p. 361);

3) wenn man von Natur sehr hellgrüne Autoplasten zur Reaction benutzt (24, Fig. 9, Taf. XXIII), wie die von Finsterkeimlingen, welche man vorsichtig bei geringer Lichtintensität ergrünen liess (48, p. 113);

4) wenn eine kranke Zelle mit Salzsäure behandelt wird (24, p. 310).

Als dritte interessante Reactionsmethode mag zuletzt die Behandlung der Autoplasten mit concentrirtem Sonnenlichte (24, p. 314) angeführt werden, welche gestatten soll (24, 327) einzelne Autoplasten in der lebenden Zelle zu tödten, zu entfärben und zu härten. Diese Methode hat auch das interessante Resultat gebracht, dass die Umsetzung des grünen Farbstoffes der Autoplasten in farblose Verbindungen unter dem Einflusse des Lichtes ein Oxydationsprocess des Farbstoffes zu sein scheint, da nur bei Gegenwart, nicht bei Abwesenheit, von Sauerstoff die Entfärbung der Autoplasten durch concentrirtes Sonnenlicht zu erreichen ist. Ich selbst habe letztere Reactionsmethode nicht aus eigner Anschauung kennen gelernt.

Pringsheim zieht nun hauptsächlich aus diesen angegebenen Reactionen den Schluss, dass ausser dem Chlorophyllfarbstoffe noch ein fettartiger Körper, das Lipochlor (48, p. 114) und ein flüssiger, ölartiger Stoff (48, p. 309 und 311), das Hypochlorin (24, p. 294), das unlösliche Gerüste der Autoplasten durchtränken.

Halten wir fest, dass wir nur dann einen an oder in dem Autoplasten durch das Mikroskop erkennbaren Körper als einen von dem Chlorophyllfarbstoffe verschiedenen Stoff anzusehen berechtigt sind, wenn wir an demselben Eigenschaften entdecken, welche mit denen im Widerspruch stehen, die dem Chlorophyllfarbstoffe bisher zugeschrieben wurden; dass wir aber, bei unserer geringen Kenntniss der Eigenschaften des Chlorophylls, noch nicht einmal dann befugt sind, einen neuen Stoff neben dem Chlorophyllfarbstoffe anzunehmen, wenn wir an dem grün gefärbten löslichen Bestandtheile des Autoplasten Eigenschaften bemerken, welche uns bisher am Chlorophyllfarbstoffe fremd waren; so finden wir, dass Pringsheim durchaus nicht berechtigt ist aus den von ihm mitgetheilten Thatsachen auf die Existenz des Lipochlor zu schliessen, dass er auch nicht im geringsten das Recht hat zu sagen (48, p. 114): »Die Existenz des Lipochlors in den Chlorophyllkörnern ist jetzt nachgewiesen.«

Alles, was wir über dieses Lipochlor, den Träger des Farbstoffes, erfahren, ist folgendes.

Erwärmt man Gewebe mit Wasser und lässt dann Salzsäure darauf einwirken, so treten grüne Tropfen aus, die später bräunlich aber nicht krystallinisch werden (24, p. 309); diese Tropfen sind nach Pringsheim Lipochlor.

Weshalb sind sie kein Chlorophyllfarbstoff?

Erwärmt man Gewebe mit Wasser, so treten farbige Tropfen aus den Chlorophyllkörnern (24, p. 190); Pringsheim sagt, dass diese Tropfen nicht nur aus dem grünen Farbstoffe bestehen, sondern, »wie schon der unmittelbare Augenschein lehrt« aus einer öligen Grundlage — dem Träger des Farbstoffes —, der diesen selbst und die ihn begleitenden Substanzen in Lösung hält.

Aus dem unmittelbaren Augenscheine kann hier, meiner Meinung nach, nichts geschlossen werden, weil man dann doch **mindestens** erst wissen müsste, wie der Chlorophyllfarbstoff unter gleichen Verhältnissen aussieht.

p. 292 der citirten Pringsheim'schen Arbeit (24) lesen wir zuletzt, dass das Lipochlor in seiner Mischung mit dem Chlorophyllfarbstoffe, in welcher uns Pringsheim diesen hypothetischen Körper stets vorführt, vollständig in starkem Alkohol und Aether löslich ist.

Die Löslichkeit in Aether und Alkohol ist ja aber eine bekannte Eigenschaft des Chlorophyllfarbstoffes und bietet deshalb ebenfalls keinen Grund für die Annahme der Existenz des Lipochlor.

Das ist alles, was uns Pringsheim an Thatsachen über sein Lipochlor mittheilt, und ich denke, dass wir danach berechtigt sind, die Annahme der Existenz dieser Substanz zu den Hypothesen zu rechnen, und da diese Hypothese zur Erklärung keiner Thatsache nöthig ist, auch berechtigt sind, diese Hypothese von nun an nicht weiter zu berücksichtigen.

Auch das Hypochlorin ist ein hypothetischer Körper. PRINGSHEIM versteht darunter, wie man aus dem ganzen Gedankengang seiner Abhandlung ersehen kann, und wie auch PRINGSHEIM an einer Stelle ziemlich klar ausspricht (24, p. 300), eine PRINGSHEIM selbst unbekannte Substanz, aus welcher bei Einwirkung von Salzsäure die schon besprochenen braunen Krystalle, Nadeln und Fäden entstehen. Die grünen oder braunen Massen, an welchen die Krystalle auftreten, sind PRINGSHEIM ein Gemisch von Farbstoff mit Lipochlor (24, p. 309 und Fig. 7, 10, 11, 12, Taf. XXV).

Wir wollen versuchen, ob es uns gelingt, den hypothetischen Körper PRINGSHEIM's, das Hypochlorin, dessen Existenz sich durch die Salzsäurereaction verräth, aufzufinden.

Lässt man Salzsäure in der von PRINGSHEIM angegebenen Weise auf chlorophyllhaltige Zellen einwirken, so tritt die Reaction derselben bei den verschiedenen Geweben langsamer oder schneller, deutlicher oder undeutlicher ein, wahrscheinlich je nach den Stoffen, welche im Inhalte der Zellen vorkommen und wohl auch je nach der specifischen Eigenthümlichkeit des betreffenden Autoplasten; in der Hauptsache reagiren aber alle chlorophyllhaltigen Zellen gleich und zwar etwa so, wie ich es hier für die Zellen eines flachen Tangentialschnittes von einem Blatte der *Iris germanica* beschreiben will. Die Autoplasten werden bei Zusatz von Salzsäure sofort mehr gelbgrün, dann treten langsam grüne Tröpfchen (Fig. 5 g) aus denselben aus, während zugleich an einzelnen Stellen braune krystallinische Massen (Fig. 5 e), meist an einem Autoplasten zu wachsen beginnen. Währt die Einwirkung der Salzsäure noch länger fort, so entfärben sich die Autoplasten mehr und mehr, zuletzt völlig, und die braunen Massen wachsen oft so, dass sie grösser als ein einzelnes Chlorophyllkorn erscheinen. Die braunen krystallinischen Massen, die Hypochlorinkrystalle PRINGSHEIM's, sind also von den grünen Tropfen wohl zu unterscheiden.

Die grünen Tropfen eines nicht zu lange Zeit mit Salzsäure behandelten Schnittes lassen sich aber ebenfalls sofort in braune Krystalle verwandeln, wenn man reinen Eisessig zu dem vorher mit Filtrirpapier abgetrockneten Schnitte zufügt. Spätestens nach einer halben Stunde findet man dann alle grünen Tröpfchen gelöst, und dafür sieht man zahlreiche, meist schön ausgebildete, braune Nadeln im Schnitte vertheilt.

Die Nadeln bestehen, wie wir sehen werden, aus derselben Substanz wie die Hypochlorinkrystalle, welche bei der Behandlung mit kaltem Eisessig ungelöst bleiben, und wir haben so in der Eisessigmethode ein sicherer und schneller wirkendes Mittel zur Erzeugung der Hypochlorinkrystalle. Legen wir frische Schnitte des Irisblattes unter ein Deckglas, lassen Eisessig zufliessen und beobachten nun unausgesetzt, so sehen wir innerhalb einiger Minuten, vorzüglich in etwas tiefer im Schnitte liegenden Zellen, wohin die Säure langsam dringt, gleichmässig grosse Tröpfchen aus dem Autoplasten austreten, welche sich oft zu grösseren Tropfen vereinigen, und sich dann zu einer gelblichgrünen Flüssigkeit lösen, aus welcher meist innerhalb der Zelle grössere oder kleinere braune Krystalle (Fig. 4) anschiessen, während die Flüssigkeit selbst immer farbloser wird. Schliesslich sieht man neben dem verquollenen Zellkerne nur noch die Krystalle in den Zellen des Schnittes. Es bleibt übrigens von jedem Autoplasten ein geformter Rest, der nur zu verschwinden scheint, weil er stark verquillt, und weil die Lichtbrechung seiner Substanz der der Essigsäure sehr ähnlich wird. Da die Menge der entstehenden Krystalle eine relativ grosse, augenscheinlich der Masse nach nicht geringer als diejenige der aus den Autoplasten dringenden Tröpfchen ist, so scheint mir der Schluss, dass sich die grünen Tropfen, nach ihrer Lösung durch den Eisessig, in eine nahe verwandte, aber schwerer in Eisessig lösliche Substanz von brauner Farbe verwandeln, und dass sich diese in Form von Krystallen ausscheidet, der einfachste zu sein, den man machen kann.

Die Eisessigreaction gelingt zwar sehr leicht, aber, wie die Salzsäurereaction, auch nicht unter allen Verhältnissen. Der Eisessig löst z. B. nicht nur die grünen Tropfen, sondern auch die Hypochlorinkrystalle (allerdings viel schwerer als die ersteren), und man muss deshalb einen Ueber-

schuss des Eisessigs vermeiden, wenn man Krystalle erhalten will. Lässt man auf dickere Schnitte der Irisblätter Eisessig einwirken, so treten gewöhnlich in und über den verletzten Zellen des Schnittes kleine Krystalle auf, obgleich sich die Autoplasten dieser Zellen entfärben. Hier wirkt der Ueberschuss des Eisessigs lösend und führt die gelöste Substanz hinweg.

Wendet man auf einen sehr zarten und kleinen Schnitt des Irisblattes nur eine Spur Eisessig an, und drückt man das Deckglas fest auf, so erhält man in jeder Zelle Krystalle; fügt man zu einem kleinen Schnitte, welcher neben einem dickeren Glasfaden unter dem Deckglase liegt, relativ viel Eisessig, so entfärben sich alle Zellen, ohne dass Krystalle auftreten.

Kocht man Schnitte der Irisblätter 15 Minuten lang mit Wasser, so erhält man die Reaction, wahrscheinlich aus verschiedenen Gründen, sehr schwierig. Einestheils ist durch das Kochen die Substanz, welche bei der Einwirkung des Eisessigs als grüne Tropfen austrat, theilweise gelöst, was man daraus schliessen kann, dass die Zellkerne der erhitzten Zellen grün gefärbt erscheinen; anderntheils ist durch das Kochen diese Substanz wahrscheinlich verändert.

Nach halbstündigem Erhitzen der Schnitte auf 80° C. lassen sich noch kleine braune Krystalle durch Eisessig herstellen, allerdings nur schwierig. Erhitzt man die Schnitte des Irisblattes etwa eine halbe Stunde lang auf 100° C., so sieht man bei Behandlung derselben mit kaltem Eisessig die grünen Tropfen zum grössten Theil ungelöst bleiben, und es findet keine Entstehung brauner Krystalle statt, selbst wenn man den kalten Eisessig eine Stunde einwirken lässt; kocht man aber die Schnitte hierauf mit Eisessig, so lösen sich die grünen Tropfen nach und nach, und es treten dann nach dem Erkalten der Lösung braune Krystalle auf, deren Menge jedoch geringer zu sein scheint als die, welche man eventuell aus demselben Schnitte durch kalte Essigsäure erhalten haben würde. Wir finden also hier ähnliche Verhältnisse wie bei der Salzsäurereaction, die ja nach Pringsheim (siehe p. 7 d. A.) auch bei vorherigem Erhitzen der Schnitte in Wasser ausbleibt, und mit kranken Zellen nicht zu erhalten ist.

Auch Frank's Angabe (26, p. 13), die dieser Autor selbst und Wiesner (49, p. 5) auf rationellem Wege zu erklären versuchen, dass mit verletzten Zellen die Reaction nicht zu erhalten sei, gehört hier her.

Die durch kalten Eisessig entstandenen Hypochlorinkrystalle sind, wenn sie aus sehr kleinen, aus ein paar Zellen bestehenden Schnitten mit einer Spur Eisessig dargestellt werden, meist sehr klein, aber doch schön nadelförmig ausgebildet; wendet man grössere Schnitte an, so wachsen die Krystalle oft innerhalb der Zelle erheblich (Fig. 4, *a*), noch mehr wachsen sie ausserhalb der Zellen (Fig. 4, *b*). Sie sind nicht selten schön nadelförmig und gerade ausgebildet, häufig gebogen, oft vielfach geschlängelt, vorzüglich, wenn sie sehr gross werden. Sie besitzen etwa die Consistenz frischen Bienenwachses, sind braun gefärbt und ziemlich transparent.

Mit einiger Vorsicht kann man sie unter dem Deckglase umkrystallisiren. Erhitzt man nämlich einen Schnitt, welcher durch kalten Eisessig völlig entfärbt und mit Krystallen angefüllt ist, mit Eisessig, so dass der letztere beinahe siedet, so lösen sich die Krystalle und schiessen dann meist als Drusen gerader Nadeln, welche relativ dunkel gefärbt erscheinen, beim Erkalten des Schnittes wieder an (Fig. 7).

Die aus kaltem Eisessig erhaltenen Krystalle verhalten sich gegen Reagentien folgendermassen:

1) Eisessig löst kalt nur sehr wenig, heiss leicht;

2) Wasser löst kalt nicht; kochendes Wasser treibt Tröpfchen aus den Krystallen und zerstört die Form der Krystalle;

3) Glycerin verändert in der Kälte nicht;

4) Alkohol (absoluter!) löst kalt völlig, aber sehr langsam;

5) Chlorallösung löst die Krystalle, ohne dass vorher bemerkbare Quellung derselben

eintritt; nach der Behandlung der Krystalle mit Chloral bleibt ein Tröpfchen ungelöst (Fig. 6 *k* und *o*); das Tröpfchen ist in Alkohol löslich.

6) Aether löst sofort;

7) Petroleumäther löst langsam;

8) Chloroform löst schnell;

9) Ricinusöl löst nur beim Erhitzen;

10) Kaliumhydroxydlösung löst weder in concentrirtem noch in verdünntem Zustande;

11) Concentrirte Salzsäure schmilzt die Krystalle zusammen und lässt einen grossen braungrünen Tropfen zurück;

12) Quecksilberchloridlösung (wässrige) bewirkt bei 24stündiger Einwirkung, dass sich die Krystalle dann nicht mehr in Alkohol lösen; in Aether lösen sie sich dann langsam, in Chloral schnell, ohne Rückstand;

13) Osmiumsäure härtet die Krystalle bei 24stündiger Einwirkung so, dass sie danach weder in Chloral noch in Alkohol oder Aether löslich sind;

14) Brom entfärbt die Krystalle sehr schnell, wenn man sie mit Wasser befeuchtet in einen bromdampfhaltigen Raum bringt; dabei werden die Krystalle, wenn die Einwirkung etwas energisch ist, vacuolig (Fig. 8).

15) Die spectroskopische Prüfung einer Lösung der Krystalle in Ricinusöl, welche Lösung man sich herstellt, indem man einen mit Eisessig behandelten Schnitt des Irisblattes, dessen Chlorophyll gänzlich verschwunden und in braune Krystalle übergegangen ist, mit einem kleinen Tropfen Oel erhitzt, ergibt ein Spectrum, welches hauptsächlich dadurch von dem einer frischen weingeistigen Lösung des Chlorophylls abweicht, dass die beiden Bänder zwischen *D* und *F* des Sonnenspectrums relativ sehr dunkel und breit sind.

Ziemlich gleich wie die mit kaltem Eisessig erhaltenen, eben charakterisirten Krystalle, verhalten sich diejenigen, welche man durch Umkrystallisiren der ersteren aus heissem Eisessig (Fig. 7) darstellt; doch scheint Alkohol, Salzsäure und Eisessig etwas weniger energisch auf sie einzuwirken, und die Salzsäure lässt oft neben den relativ grossen, dunklen tropfenförmigen Resten, die beim Zusammenschmelzen der Krystalle bleiben (siehe Reaction 11), noch farblose Tropfen aus den letzteren entstehen.

Auch die nach Pringsheim's Methode an den Autoplasten der Irisblätter bei Behandlung derselben mit Salzsäure auftretenden braunen Krystalle, die Hypochlorinkrystalle Pringsheim's, zeigten sich gegen conc. Salzsäure und gegen Alkohol etwas widerstandsfähiger, verhielten sich aber sonst völlig wie die durch kalten Eisessig erhaltenen Krystalle. Die bei Reaction 2 und 5 durch gesperrten Druck hervorgehobenen Versuche wurden mit Pringsheim's Krystallen nicht angestellt, weil diejenigen Krystalle, welche ich erhielt, dazu zu klein waren; ebenso musste ich die spectroskopische Prüfung unterlassen, weil es mir nie gelang durch Salzsäure alle gefärbte Substanz einer Zelle in deutliche Krystalle überzuführen. Es ist demnach wohl anzunehmen, dass die durch Essigsäure erhaltenen Krystalle wesentlich identisch sind mit den Hypochlorinkrystallen, denn die geringe Abweichung bezüglich der Löslichkeit in Alkohol und der Zersetzbarkeit durch Salzsäure haben sie ja mit den aus heissem Eisessig erhaltenen Krystallen gemein.

Ich habe die Hypochlorinkrystalle auch makrochemisch und zwar grammweise hergestellt. Es gelingt dies relativ leicht, wenn man ganze Hollunderblätter (*Sambucus nigra*) mit wenig Eisessig bei 100° C. im Luftstrome auszieht, die heisse Lösung schnell durch ein Tuch giesst und erkalten lässt, oder wenn man Grasblätter mit Eisessig in offenen Schalen kocht, und die Abkochung langsam abkühlt. Es scheiden sich dann grosse fadenartige Krystalle aus. Dampft man bei 100° C. weiter ein, so erhält man beim Erkalten der concentrirten Lösung meist Drusen wie Fig. 7, doch

sind die Nadeln oft verzweigt und die Drusen bis zwanzigmal grösser als die gezeichnete. Aus Aether lassen sich die Krystalle leicht umkrystallisiren.

Die Eigenschaften der mikrochemisch und makrochemisch dargestellten Krystalle brachten mich auf den Gedanken, dass die Hypochlorinkrystalle identisch mit dem Chlorophyllan Hoppe-Seyler's sein könnten.

Hoppe-Seyler gibt an (57), dass die Chlorophyllankrystalle als sichelförmig gebogene, spitzwinkelige Täfelchen, oft rosettenförmig oder radial nach allen Richtungen um einen Punkt gestellt auftreten; sie sind nach ihm im auffallenden Lichte schwärzlichgrün, im durchfallenden Lichte braun, besitzen Wachsconsistenz, lösen sich leicht in Aether, Alkohol, Petroleumäther, schwer in kaltem, leichter in heissem Alkohol, und die Absorptionsbänder ihrer Lösung, welche zwischen den Frauenhofer'schen Linien *D* und *F* liegen, sind breiter als die analogen einer frischen Chlorophylllösung.

Diese Charakteristik passt fast wörtlich auf unsere Eisessigkrystalle, und die weitere Untersuchung hat gelehrt, dass das Chlorophyllan, von dem mir durch die Güte des Herrn Professor Hoppe-Seyler eine Probe zur Verfügung stand, sich auch gegen alle anderen von mir angewandten Reagentien fast ganz wie die Hypochlorinkrystalle verhielt.

Einige kleine Differenzen habe ich allerdings zwischen den übrigens schon etwas lange aufbewahrten Chlorophyllankrystallen Hoppe-Seyler's und den aus kaltem Eisessig unter dem Deckglase erhaltenen Krystallen auffinden können; doch erscheinen dieselben bei genauerer Ueberlegung von nur untergeordneter Bedeutung.

Die Löslichkeit des Chlorophyllans in kaltem Alkohol ist geringer als die der mit Eisessig erhaltenen Krystalle.

Das Chlorophyllan wurde aber bei der Darstellung verschiedene Male mit Alkohol erhitzt, eine Manipulation, von der man annehmen kann, dass sie den Körper sehr wohl unlöslicher machen kann, wenn man bedenkt, dass schon das Kochen mit Eisessig ähnlich auf ihn einwirkt.

Nach Behandlung des aus heissem Eisessig umkrystallisirten Chlorophyllans mit Quecksilberchloridlösung und dann mit Aether bleibt ein kleiner farbloser Rest zurück, welcher ungefähr die Form der Krystalle beibehält (Fig. 9). Hier mag eine Verunreinigung der Chlorophyllankrystalle der Grund der Erscheinung sein.

Die freiliegenden Chlorophyllankrystalle sind dagegen in Chlorallösung ohne Rest löslich.

So sind wir wohl zu dem Schlusse berechtigt, dass die Hypochlorinkrystalle Pringsheim's mit Hoppe-Seyler's Chlorophyllankrystallen identisch sind. (Siehe hierzu auch 56).

Nach Hoppe-Seyler's Untersuchungen ist das Chlorophyllan ein sehr complicirt zusammengesetzter Körper. Es scheint ihm ein Lecithin zu sein, in welchem in Uebereinstimmung mit anderen Lecithinen sich Glycerin und Cholin in Verbindung mit Phosphorsäure befinden, das Glycerin sich aber ausserdem (entweder allein oder zugleich mit fetten Säuren) in Verbindung befindet mit der Chlorophyllansäure (59, p. 78). Bezüglich der Verwandtschaft des Chlorophyllans mit dem Chlorophyllfarbstoffe ist Hoppe-Seyler, hauptsächlich wegen der spectroskopischen Reaction des Chlorophyllans, der Meinung, dass das Chlorophyllan ein dem Chlorophyllfarbstoffe der lebenden Pflanze sehr nahe stehender Körper, jedoch ein Umwandlungsproduct desselben sei. Gautier's krystallisirtes Chlorophyll scheint wohl identisch mit dem Chlorophyllan Hoppe-Seyler's oder wenig verschieden von demselben zu sein, wie übrigens auch Gautier annimmt. Gautier betrachtet die Färbung des Körpers als nebensächlicher und nennt seine Krystalle, weniger vorsichtig als Hoppe-Seyler, einfach Chlorophyll. Gautier's Chlorophyllkrystalle sind anfangs grün, werden aber später gelblich oder bräunlich; im diffusen Lichte werden sie gelbgrün und entfärben sich später gänzlich.

Diese Ansichten über die Natur der Chlorophyllankrystalle stehen in schönem Einklange

mit unseren Beobachtungen über die directe Umwandlung der grünen, aus den Chlorophyllkörnern austretenden Tropfen in die Chlorophyllankrystalle, von welcher ich p. 8 d. A. sprach.

Die Chlorophyllankrystalle scheinen auch danach ein leicht aus dem in Alkohol, Essigsäure etc. löslichen Bestandtheile der Autoplasten, welcher durch wenig Eisessig, durch heisses Wasser etc. aus dem Autoplasten in Form grüner Tropfen hervortritt, hervorgehendes Umwandlungsproduct zu sein. Dass diese Umwandlung nicht nur durch Säuren hervorgerufen werden kann, sondern auch durch die Wirkung von Glycerin etc. eintritt, gibt schon PRINGSHEIM an (24, p. 314). Ich habe einzelne schöne Chlorophyllankrystalle dadurch erhalten können, dass ich einen Schnitt des Irisblattes mit einem Tropfen Petroleumäther befeuchtet unter ein Deckglas brachte und in einem mit Petroleumätherdämpfen gesättigten Raume einige Tage stehen liess. Da hier sicher genügend Sauerstoff, aber wenig Säure (die Säure des Zellsaftes) vorhanden war, und nur wenig Krystalle entstanden, so scheint es, dass die Menge der Säure von grösserer Bedeutung für die Entstehung der Chlorophyllankrystalle ist.

Wie aus unseren mikrochemischen und HOPPE-SEYLER's makrochemischen Versuchen, ebenso aus GAUTIER's Untersuchungen hervorgeht, scheint ein besonderer, leicht zerstörbarer Atomcomplex die Farbe des Chlorophyllans zu bedingen. Dieser Atomcomplex ist vielleicht isolirbar und ihm käme dann der Name »Chlorophyllfarbstoff« eigentlich zu. In Rücksicht auf die Wahrscheinlichkeit, dass die Darstellung dieses Körpers gelingen wird, möchte ich vorschlagen, die Substanz, von welcher das Chlorophyllan eine Modification ist, den Körper, welcher uns in Form der grünen Tropfen bekannt ist, »Chlorophyll« zu nennen und den hypothetischen Atomcomplex, welcher die Farbe des Chlorophylls bedingt, als »Chlorophyllfarbstoff« zu bezeichnen. Wir gehen damit nur auf die ursprüngliche Bedeutung des von PELLETIER und CAVENTU 1817 eingeführten Wortes Chlorophyll zurück.

Wir haben also so die Aufgabe, welche wir uns p. 8 dieser Arbeit stellten, PRINGSHEIM's hypothetisches Hypochlorin aufzufinden, gelöst; denn dieses ist, da ja die Hypochlorinkrystalle PRINGSHEIM's identisch sind mit den Chlorophyllankrystallen, derselbe Körper, welcher bisher allgemein Chlorophyll genannt worden ist.

Es ist demnach der Ausdruck Hypochlorin überflüssig geworden.

Damit haben wir denn alles untersucht und untergebracht, was aus PRINGSHEIM's Arbeiten über die Chlorophyllkörner bezüglich der näheren Bestandtheile, aus welchen die Autoplasten aufgebaut sind, zu lernen ist.

Ehe wir zu dem übergehen, was uns PRINGSHEIM's Untersuchungen über die Structur der Autoplasten lehren, wollen wir erst kurz das einschalten, was wir über den in den Lösungsmitteln unseres Chlorophylls unlöslichen Bestandtheil der Autoplasten in chemischer Beziehung wissen.

Behandelt man die Autoplasten mit den verschiedensten Lösungsmitteln des Chlorophylls, so behält man immer einen ungefärbten Rest zurück, der mehr oder weniger gequollen sein kann, schliesslich aber meist durch verschiedene Mittel wieder contrahirbar ist und dann die ungefähre Grösse und Gestalt der intacten Autoplasten wieder annimmt, mit welcher er auch bei nicht quellenden Lösungsmitteln des Chlorophylls erhalten wird. PRINGSHEIM bezeichnet diesen Rest in seiner letzten Abhandlung (48, p. 92) als Gerüst (Stroma).

Bezüglich der näheren chemischen Bestandtheile dieses Gerüstes muss man sich zuerst klar sein, dass dieselben je nach den angewandten Lösungsmitteln verschieden sein können. Allerdings löst sowohl Petroleumäther als Chloroform, Alkohol und Chlorallösung unser Chlorophyll, aber andere, uns bis jetzt unbekannte Stoffe, welche wohl noch ausser dem Chlorophyll vorhanden sein können, brauchen ja durchaus nicht in allen Lösungsmitteln des Chlorophylls gleichmässig löslich zu sein. Es schien mir sogar, als ob nach Behandlung der Autoplasten mit Petroleumäther und mit

Chlorallösung das Gerüste verschieden reagirte, doch sind meine Beobachtungen über diesen Gegenstand so unsicher, dass ich die Entscheidung der Frage der Zukunft überlassen muss.

Sachs hat nun folgende Reactionen mit dem Gerüste angestellt, welches er durch Extraction der Autoplasten mittelst Alkohols erhielt:

1) Jod färbt braun,

2) Essigsaurer Cochenilleauszug färbt ziegelroth,

3) Kupfervitriol und Kalilauge violett,

4) Salpetersäure und Kalilauge gelb;

5) Concentrirte Kalilauge lässt die Form des Gerüstes unverändert, bei nachherigem Wasserzusatze wird dies Gerüste zerstört;

6) Phosphorsäure (sp. Gew. 1,060) verändert die Form des Gerüstes nicht.

Das ist alles, was bisher von chemischen Reactionen des Gerüstes bekannt war. Auch ich kann zu der Frage nur einen sehr geringen Beitrag liefern, da ich hauptsächlich nur die Wirkung des Chlorals, des Eisessigs und der Osmiumsäure auf das Gerüst studirt habe, welches nach Extraction der Autoplasten (von *Vallisneria spiralis* und *Phajus grandifolius*), zuerst mit Aether, und hierauf mit Alkohol, zurückbleibt.

7) Chlorallösung dehnt die Gerüste etwa um die Hälfte ihres Volumens, ohne dass ihre Structur verloren geht. Durch Wasserzusatz werden sie unter Contraction wieder deutlich erkennbar.

8) Eisessig quellt wie das Chloral. Die mit Eisessig behandelten Autoplasten speichern wie der Rest des übrigen Plasmas kein Methylgrün in sich auf, wenn man sie in eine wässerige Lösung dieses Körpers bringt, während der Zellkern sich noch mit Methylgrün färbt.

9) Osmiumsäure hindert (nach zwölfstündiger Einwirkung) die Quellung durch Chloral nicht. Es sei noch bemerkt, dass weder Chromsäure noch rauchende Salpetersäure lösend auf das Gerüste wirken.

Wir kommen nun zu dem, was uns Pringsheim's Arbeit neues über die Structur des Chlorophyllkornes gelehrt hat.

Pringsheim beobachtete, dass das farblose Gerüste der Autoplasten, welches nach Behandlung derselben mit Salzsäure, mit heissem Wasser (24, p. 290, 293, 312), mit Alkohol oder anderen Lösungsmitteln zurückbleibt, eine, wie sich Pringsheim ausdrückt, schwammförmige Structur besitzt, also z. B. dann, wenn es sich recht dünn über ein Stärkekorn ausgebreitet hat, ein einfaches, völlig durchbrochenes Netz darstellen kann.

Ein Gerüste derselben Natur bleibt nach Pringsheim ebenfalls zurück, wenn man den Autoplasten durch concentrirtes Sonnenlicht entfärbt. Pringsheim beschreibt auch (24, p. 312), dass man in manchen Fällen die grünen Tropfen noch aus den Lücken hervorragen sieht.

Die angeführten Thatsachen sind in der Hauptsache richtig. Vorzüglich schön kann man das Gerüste erhalten, wenn man einen Tag über in Salzsäure gehärtete Autoplasten (von *Vallisneria* z. B.) mit wenig Eisessig oder mit Chlorallösung behandelt. Das Austreten der Tropfen kann man in allen Stadien beobachten, wenn man zu nicht zu dünnen, frischen Schnitten autoplastenhaltiger Gewebe direct Eisessig zufügt, oder wenn man zu Schnitten, welche in wenig Wasser unter dem Deckglase liegen, langsam Chlorallösung zutreten lässt. In beiden Fällen erscheinen schon nach einigen Minuten die Autoplasten einzelner Zellen wie mit grünen Perlen besetzt; diese fliessen dann häufig zusammen, ehe sie sich völlig lösen.

Da Pringsheim annimmt, das Chlorophyllkorn bestehe aus einem schwammförmigen Gerüste, welches im normalen Zustande von dem ölartig flüssigen Träger des Farbstoffes und von dem Hypochlorin (also von unserem Chlorophyll) durchtränkt sei (24, p. 313), so ist er vielleicht deshalb nicht auf den Gedanken gekommen, diesen Bau des Chlorophyllkorns auch an

dem intacten Autoplasten aufzusuchen, weil ihm ein mit undurchsichtiger grüner Substanz getränkter, farbloser Schwamm als Bild vorschwebte, an dem dann allerdings wegen der Communication der Hohlräume eine regelmässige Structur schwer zu erkennen sein würde. In der That lässt sich aber an dem lebenden Autoplasten, wenn er völlig unverletzt ist, eine eigenthümliche Structur erkennen, die den Eindruck macht, als seien in eine mehr oder weniger farblose Grundmasse und von dieser überall umschlossen, dunkelgrüne Körner oder Kugeln eingelagert. Freilich muss man erst einige Uebung besitzen, ehe einem diese Körner und vorzüglich deren grüne Färbung überall in die Augen fällt, und daher mag es kommen, dass sie so lange wenig beachtet worden sind. Nur Mohl und Böhm ist diese körnige Structur der Autoplasten in bemerkenswerther Weise aufgefallen, und verschiedene Angaben dieser Autoren über Einschlüsse sind durch diese Structur der Autoplasten veranlasst; *Asphodelus luteus* ist ein Beispiel, an dessen Autoplasten die körnige Structur leicht zu beobachten ist, und die Autoplasten dieser Pflanze werden von Böhm als Exempel solcher Chlorophyllkörner angeführt, in welchen Körnchen unbekannter Natur, die nach Böhm vielleicht einer dem Inulin oder Paramylum ähnlichen Substanz angehören, eingeschlossen vorkommen. Ebenso ist bei *Clivia nobilis*, welche Mohl anführt, die Körnelung auf die erwähnte Structur der Autoplasten zurückzuführen.

Um uns über diese Structur zu orientiren ist es nöthig, unsere Untersuchungen zuerst an einem möglichst deutlichen Beispiele zu machen; das eclatanteste, welches ich finden konnte, waren die Autoplasten der grünen Knollen von *Acanthephippium silhetense*. Diese grossen Chlorophyllkörner haben verschiedene Eigenschaften, welche sie für die Entscheidung der Frage nach der Structur der Autoplasten sehr geeignet machen. Einmal wachsen die Stärkekörner hier nicht innerhalb sondern an dem Autoplasten, und es treten deshalb keine störenden Stärkekörnchen in der Masse des Autoplasten auf; dann findet sich ebenfalls deutlich gesondert ein grosses Krystalloid an dem Autoplasten, so dass auch vielleicht Proteinkrystalle oder Proteinkörner als Einschlüsse nicht in diesem Chlorophyllkorne zu erwarten sind, und endlich breitet sich der Autoplast über die grossen Stärkekörner häufig so aus, dass man gleichsam einen Durchschnitt durch die Masse des Chlorophyllkorns beobachten kann und dadurch die Structur desselben klar vor Augen hat. Nur die unangenehme Eigenschaft besitzen die Knollen, dass sie eine grosse Menge sehr stark quellbaren Schleimes enthalten, welcher die Beobachtung hindert und Einwirkung der Reagentien etwas stört. Eine gute Eigenschaft dieses Schleimes liegt aber auch wieder in der letzteren Wirkung desselben, da auch die Zerstörung der normalen Structur durch Wasser gerade durch den Schleim verhindert wird.

Untersucht man nun den Autoplasten an Stellen, wo derselbe in dünner Schicht über ein Stärkekorn ausgebreitet ist, also am Rande des das Stärkekorn umfassenden Chlorophyllkorns (Fig. 10 bei *P*), so sieht man deutlich, dass derselbe aus einer hellen Substanz besteht, in welche dunkelgrüne Körner von annähernd gleicher Grösse in regelmässigen Abständen eingelagert sind. Es war mir nicht möglich mit aller Schärfe die Frage zu entscheiden, ob die Masse, in welche die Körner eingelagert sind, völlig farblos oder nur sehr hellgrün ist. Es wäre die Klärung dieses Punktes von Wichtigkeit, weil im Falle der Farblosigkeit der Grundsubstanz die Auffassung gerechtfertigt erschiene, dass die grünen Körner, welche wir der Kürze halber »Grana« nennen wollen, aus unserem Chlorophyll beständen, und dass dieses in der übrigen Masse des Autoplasten nicht weiter vorkäme. Es wäre dann auch um so wahrscheinlicher, dass der hypothetische Chlorophyllfarbstoff nur in Verbindung mit den Bestandtheilen vorkäme, mit denen er in den Chlorophyllankrystallen verbunden ist, während man im entgegengesetzten Falle auch vermuthen könnte, dass der hypothetische Farbstoff auch allein das Gerüste tingirt. Die Körner erscheinen übrigens nach dem Rande des Autoplasten zu häufig etwas heller; vielleicht sind sie dort nur weniger dick.

Betrachtet man nun die massigeren Partieen des Autoplasten, so erkennt man, dass auch

diese aus Grana bestehen, welche in eine farblose (?) Substanz eingebettet sind. Was die Frage anbelangt, ob diese Einbettung eine vollkommene ist, ob jedes dieser Grana rings von farbloser Masse umhüllt ist oder ob eines oder das andere frei in das umgebende Plasma hinausragt, so habe ich mich schliesslich für die Annahme einer völligen Umhüllung und völligen Trennung der einzelnen Grana durch die farblose Masse entschieden; obgleich es wegen der Kleinheit des Objectes kaum möglich ist diese Frage mit absoluter Gewissheit zu entscheiden, habe ich doch in einigen günstigen Fällen den Eindruck erhalten, als seien auch die Grana des äussersten Randes noch von einer feinen Schicht einer stärker lichtbrechenden Masse überzogen.

Gehen wir nun dazu über die Wirkung einiger Reagentien auf diese Autoplasten und ihre Grana zu prüfen.

1) Wasser.

Legt man einen dickeren Schnitt der Knolle in viel Wasser, so beobachtet man, dass zwei von einander ganz verschiedene Veränderungen mit den Autoplasten vor sich gehen können, welche die geschilderte normale Structur derselben zerstören.

In dem einen Falle sieht man die Autoplasten homogen werden; die Grana verschwinden dann, und die Masse wird gleichmässig grün. Diese Erscheinung ist bei *Acanthephippium* selten und soll später besprochen werden.

In dem anderen Falle könnte man bei oberflächlicher Betrachtung glauben, die körnige Structur der Autoplasten sei durch die Einwirkung des Wassers nur deutlicher hervorgetreten; verfolgt man aber den Vorgang in diesem Falle genauer, so erkennt man, dass die Grana zerstört werden, und dass ein Vacuoligwerden der Autoplasten stattfindet.

Dieses Vacuoligwerden erfolgt in nachstehend beschriebener Weise.

Stellt man das Mikroskop auf einen Autoplasten des im Wasser liegenden Gewebes möglichst tief ein, so sieht man bei Beginn der Einwirkung des Wassers zuerst einen hellen Punkt in den Grana auftreten (Fig. 11, *a*), während dieselben etwas quellen; die Quellung steigert sich bei weiterer Einwirkung des Wassers bedeutend, und die Vacuole vergrössert sich ebenfalls (Fig. 11, *b*). Auf diesem Stadium bleibt die Erscheinung meist stehen; hier und da fallen aber die Blasen zuletzt zusammen, und die gequollenen Grana erscheinen dann körnig und verschwommen (Fig. 11, *c*).

2) Chlorallösung (5 Chloralhydrat + 2 Wasser).

Lässt man die Chlorallösung direct zu einem dicken Schnitte der Knolle fliessen, so treten zuerst die eben für die Wirkung des Wassers beschriebenen Erscheinungen auf, dann aber bildet sich in der Vacuole ein Tropfen grüner Masse, welcher sich aus der im optischen Querschnitte als Ringwulst erscheinenden Blase absondert (Fig. 12, *a*). Die grünen Tropfen lösen sich bald völlig, und es bleibt ein farbloses Gerüste, dessen Höhlungen bedeutend grösser sind als die Grana (Fig. 12, *b*).

3) Alkohol.

Durch Alkohol tritt eine Contraction des Autoplasten, eine Entfärbung und eine anscheinende Verminderung der Substanzmenge desselben ein. Man sieht an dem zurückbleibenden Gerüste eine eigenthümliche Structur, die sich am einfachsten so deuten lässt, dass Hohlkugeln dichterer oder stärker lichtbrechender Substanz in einer weniger dichten Grundmasse eingebettet liegen (Fig. 13).

4) Kalilauge.

Verdünnte Kalilauge wirkt etwas stärker quellend auf die Grana als Wasser. Concentrirte Kalilauge wirkt weniger als Wasser auf die Grana ein.

5) Ueberosmiumsäurelösung.

Dieses Reagens härtet die Autoplasten sofort und hindert dann die Zerstörung der Grana durch Wasser völlig.

Chloral quellt die mit Osmiumsäure behandelten Autoplasten nur äusserst wenig.

Behandelt man einen mit Osmiumsäure gehärteten Autoplasten mit Alkohol, so kann man keine Veränderung seiner Bestandtheile constatiren; bestimmt findet keine Lösung der Grana statt.

Ehe wir aus den angegebenen Reactionen einen Schluss auf den inneren Bau der Autoplasten ziehen, sei die Frage aufgeworfen, ob die bei *Acanthephippium* beobachtete körnige Structur eine bei allen Autoplasten der Angiospermen vorkommende Eigenschaft ist. Von vorn herein darf man annehmen, dass, wenn Pringsheim's Angabe, »die schwammförmige Structur sei eine allgemein verbreitete Eigenschaft des Gerüstes«, den thatsächlichen Verhältnissen entspricht, auch die körnige Structur eine eben so verbreitete Eigenschaft der intacten Autoplasten ist, da wir sahen, dass die Vacuolen des Gerüstes aus den Grana hervorgingen.

Auf Böhm's kurze Angaben über das allgemeine Vorkommen der Körner ist wenig Werth zu legen, weil die Mittheilungen doch zu allgemein gehalten sind, und man nicht weiss, von wie vielen Beispielen er beim Generalisiren ausgegangen ist. Auch gibt er keine Charakteristik der Körner, so dass man nicht wissen kann, ob er nicht mancherlei confundirt hat.

Ich habe allerdings nur bei wenigen Pflanzen genau nachgesehen, aber dort die Grana ohne Ausnahme gefunden, allerdings in sehr verschiedener Deutlichkeit.

Die Autoplasten des Blattparenchyms von *Acanthephippium* zeigen die körnige Structur recht klar. Fig. 14 gibt zwei solcher intacter Autoplasten wieder. Durch Wasserwirkung erhalten sie das in Fig. 15 dargestellte Aussehen, welches sich sehr wohl auf das der durch Wasser veränderten grossen Autoplasten der Knollen zurückführen lässt, indem wir auch hier statt eines jeden Granum einen Ring stärker lichtbrechender Substanz auftreten sehen. In geöffneten Zellen geht die Wirkung des Wassers auf die Autoplasten meist viel weiter, doch lässt sich selbst in sehr zerfallenen Autoplasten die angedeutete Structur noch erkennen.

Ebenso zeigen die Autoplasten von *Phajus grandifolius* die körnige Structur sehr gut.

Vallisneria spiralis, von deren Autoplasten Pringsheim die schönsten Gerüste erhalten zu haben scheint (24, Taf. XXV, Fig. 8 u. 9) (die Abbildung ist übrigens nicht exact, da um jede Höhlung ein stark lichtbrechender Rand auftritt, ähnlich wie ich ihn in Fig. 13 abgebildet habe) lässt auch in vorzüglicher Weise die Grana erkennen. Die Figuren 16a und b zeigen diese Autoplasten, w e sie bei tiefer und hoher Einstellung im Mikroskope erscheinen.

Au ch bei *Adoxa moschatellina* findet man die Autoplasten der Blätter körnig, vorzüglich, wenn die etzteren völlig entwickelt und schön dunkelgrün sind (am 10. Mai untersucht). Hungert man die Pflanze in kohlensäurefreiem Raume aus, so dass alle Stärke aus den Autoplasten und Anaplasten schwindet, so bleiben doch die Grana und die Autoplasten erhalten. Die Autoplasten der Blattstiele zeigen die Grana häufig von sehr ungleicher Grösse.

Wo das Vacuoligwerden eines Autoplasten von *Adoxa* eintritt, kann man, wie ich nebenbei bemerken will, bei aufmerksamer Beobachtung häufig eine mit stark lichtbrechender Flüssigkeit gefüllte Vacuole entstehen sehen, welche sehr schnell wieder verschwindet; es scheint mir diese Beobachtung interessant, weil auch Pringsheim an den Amylumheerden von *Spirogyra* eine ähnliche Erscheinung gesehen hat (24, p. 306), weil sie zeigt, dass schon durch Wasser eine Substanz aus dem Autoplasten aufgenommen wird, und weil sie den Schluss gestattet, dass das Auftreten der Vacuole am Autoplasten mit dieser Entstehung einer endosmotisch wirksamen Lösung zusammenhängt. Auch aus den Autoplasten von *Iris germanica*, tritt beim Zerfallen durch Wasserwirkung eine in Wasser lösliche Substanz aus, was man daran erkennen kann, dass Vacuolen, welche im Autoplasten beim Zerfall desselben entstehen, eine Flüssigkeit einschliessen, die sich durch schwache Jodlösung deutlich rothbraun färbt. Bei älteren, dunkelgrünen Blättern von *Iris germanica* sieht man übrigens die Grana in den Autoplasten ebenfalls deutlich. Ueberosmiumsäure lässt auch hier die Grana noch besser hervortreten.

Wie es auch nach diesen Beobachtungen scheint, ist die körnige Structur der Autoplasten eine sehr weit verbreitete; dennoch sind bezüglich dicotyledoner Gewächse noch viel zu wenig Beobachtungen gemacht, um die hier besprochene körnige Structur als eine für die Angiospermen gesetzmässige Erscheinung bezeichnen zu dürfen.

Es fragt sich nun, was wir aus den Reactionen der Grana, vorzüglich der von *Acanthephippium*, über deren Natur schliessen können.

Nehmen wir zuerst an, dass die Masse der Autoplasten nur aus unserem Chlorophyll und aus der Gerüstemasse bestände, welche nach Extraction der Autoplasten mittelst Alkohols zurückbleibt, so ist leicht einzusehen, dass die Quellung des Autoplasten durch Wasser höchst wahrscheinlich keine Function des Chlorophylls sein kann, da ja das Chlorophyllan und Chlorophyll nicht quellbar und in Wasser unlöslich ist, sondern auf der Quellbarkeit der Gerüstemasse beruhen muss. Da nun die Grana quellen, ohne dass sich Farbstoff löst (Fig. 11), so geht daraus hervor, dass sie eine Grundlage besitzen müssen, welche aus der Gerüstesubstanz besteht, und welche dann von Chlorophyll durchtränkt zu denken wäre.

Nimmt man nicht an, dass auch bei Behandlung der Autoplasten durch Alkohol, Aether etc. immer erst in der erkrankenden Zelle eine theilweise Quellung der Substanz des Autoplasten eintritt, ehe die Härtung des Gerüstes erfolgt, so müsste nach dem Aussehen des Gerüstes (Fig. 13) zu urtheilen, die Gerüstesubstanz der Grana schon im intacten Autoplasten kleine Hohlkörper bilden, welche mit Chlorophyll gefüllt oder auch leer sein könnten, und deren Wände von Chlorophyll durchtränkt sein müssten.

Nehmen wir aber anderenfalls an, dass ausser Gerüstesubstanz und Chlorophyll noch andere Substanzen den Autoplasten von *Acanthephippium* aufbauen, so würden sich alle besprochenen Reactionen derselben erklären lassen, wenn wir annähmen, dass jedes Granum einen der Beobachtung entgehenden, in Wasser löslichen Einschluss enthielte. Die aus diesem Einschluss hervorgehende endosmotisch wirksame Lösung bewirkte dann die Dehnung der zugleich quellenden Gerüstesubstanz, welche eine relativ dichte Kugelschale um den Einschluss bildete, in der das Chlorophyll hauptsächlich oder allein eingelagert wäre.

Selbstverständlich sind diese Erklärungsversuche nur von sehr bedingtem Werthe, und es bedarf noch sehr zahlreicher Beobachtungen, ehe man etwas sicheres über diese Verhältnisse aussagen kann.

Wir hätten nun noch einige Worte über das Homogenwerden der Autoplasten zu sagen. Diese Erscheinung habe ich nur an den Autoplasten intacter Zellen von Schnitten beobachtet, welche längere Zeit in Wasser lagen. Im April untersuchte junge Blätter von *Iris germanica* liessen den Vorgang des Homogenwerdens z. B. schön erkennen. Die Autoplasten dehnten sich dabei zu einer flachen Scheibe aus (Fig. 17), wurden gleichmässig hellgrün, liessen ihre Einschlüsse (Fig. 17, *a*) klar hervortreten, verwandelten sich aber bei Verletzung der Zelle doch in einen vacuoligen Körper. Auch bei *Vallisneria spiralis* tritt das Homogenwerden sehr leicht ein. Die Autoplasten werden transparenter und gedehnt, hauptsächlich in den Zellen, in welchen das Protoplasma in sehr schnelle Rotation geräth. Zwei homogen gewordene Autoplasten von *Adoxa* habe ich in Fig. 18, *b* abgebildet.

Die Erscheinung des Homogenwerdens muss noch näher studirt werden; sie wird sehr interessant, wenn man sie mit dem Vacuoligwerden der Autoplasten vergleicht und einen Zusammenhang zwischen beiden Vorgängen sucht. Mir ist es noch nicht gelungen, eine irgend klare Vorstellung über diesen Zusammenhang zu gewinnen.

Wie schon erwähnt, werden durch das Homogenwerden der Autoplasten ihre Einschlüsse sehr deutlich. Vorzüglich ist diese Thatsache auffallend bei denjenigen Autoplasten, welche sogenannte Oeltröpfchen enthalten. Diese Oeltröpfchen sind im ungedehnten Autoplasten oft kaum zu erkennen, treten aber nach der Wassereinwirkung sofort deutlich hervor, wie schon Briosi richtig

beschreibt. Briosi's Erklärung der Erscheinung, welche ich p. 6 dieser Arbeit wiedergegeben habe, ist falsch, da ein Zusammenfliessen des Oels nicht stattfindet. Die Einschlüsse der sogenanntes Oel enthaltenden Autoplasten bleiben vielmehr an ihrem ursprünglichen Platze liegen, etwa wie ein kleines im Autoplasten liegendes Stärkekorn, und werden nur besser erkennbar, weil die Substanz des Autoplasten transparenter wird.

Es soll jetzt unsere Aufgabe sein, die sogenannten Oeltröpfchen und ihre Beziehung zur Structur des Autoplasten etwas näher zu untersuchen.

Unsere erste Untersuchung muss dabei der Frage gelten, ob diese tröpfchenartigen Einschlüsse, welche Briosi für *Musa*- und *Strelitzia*-Arten beschrieben hat, wirklich fettes Oel sind, wie ja von Godlewski und Holle angenommen wird.

Dass die Entscheidung dieser Frage nach dem gewöhnlichen mikrochemischen Verfahren nicht zu treffen ist, wird jedermann einsehen, der einen Begriff von Chemie hat und die Angaben liest, welche Poulsen (60, p. 72) in seiner Zusammenstellung der mikrochemischen Reactionen über die mikrochemischen Eigenschaften der fetten Oele macht. Ich will deshalb eine neue Reactionsmethode beschreiben, die allerdings nur als ein erster Versuch einer rationelleren Lösung der Frage nach der Natur eines ölartig aussehenden Stoffes zu betrachten ist, und dazu mit der Aufzählung der angewandten Reagentien beginnen, deren Verhalten zu fetten und ätherischen Oelen ich zugleich schildern werde. Obgleich wir die letzteren hier nicht zu berücksichtigen haben, wird es doch zweckmässig sein, ihr Verhalten zugleich mit anzuführen, da durch dieses Verfahren jede zu optimistische Anschauung über den Werth der Reactionen vermieden wird und klar hervortritt, wie schwer es ist, diese so verschiedenen Körperclassen auf mikrochemischem Wege zu unterscheiden.

1) Eisessig, also Acidum aceticum der Apotheken, vom sp. Gew. 1,06 und dem Siedepunkte 118° C., verhält sich gegen die wichtigsten ätherischen und fetten Oele bei mikrochemischer Untersuchung folgendermassen.

Um eine Trübung in 3 cc Eisessig hervorzurufen, braucht man 6 Tropfen Terpentinöl, 6 Tropfen Wachholderbeeröl, 10 Tropfen Citronenöl. Bergamottöl, Rosmarinöl, Nelkenöl, Zimmtöl, Kümmelöl, Pfefferminzöl, Sadebaumöl lösen sich sofort in 2 Theilen Eisessig.

Es geht also hieraus hervor, dass Eisessig bei mikrochemischer Anwendung die meisten äth. Oele lösen muss und zwar sofort, wenn er in die Zelle eindringt, während einige Oele, die sich etwas schwerer lösen, sehr bald von einem geringen Ueberschusse der eindringenden Säure aufgenommen werden müssen.

Von fetten Oelen habe ich folgende bezüglich ihres Verhaltens zu Eisessig geprüft: Olivenöl, Arachisöl, Sesamöl, Leinöl, Mohnöl, Rüböl, Wallnussöl, Mandelöl, Ricinusöl und Baumwollensamenöl.

Von diesen Oelen ist nur Ricinusöl mit Eisessig mischbar, alle anderen sind so wenig löslich in Eisessig, dass schon 1 Tropfen der Oele genügt, um 6 cc des Eisessigs stark zu trüben.

Es geht daraus hervor, dass Eisessig bei mikrochemischer Benutzung die fetten Oele meist nicht lösen wird, wenn man die Anwendung einer zu grossen Menge des Lösungsmittels vermeidet.

Die Reactionen müssen übrigens, eben um einen zu grossen Ueberschuss des Reagens zu vermeiden, alle unter dem Deckglase ausgeführt werden; denn wenn man, wie es häufig geschieht, eine Zelle einen Tag lang in 20 cc Flüssigkeit hineinlegt, um die Löslichkeit eines Zellbestandtheiles in derselben zu prüfen, so stellt man etwa die Frage: »Ist der Körper in 2000000 Theilen der Flüssigkeit löslich?« Die Antwort auf eine solche Frage wird nur in wenigen Fällen nützen, und es ist demnach auf die Wirkung der Hauptwerth zu legen, welche eine Flüssigkeit bald nach ihrem Eindringen in die Zellen dünner Schnitte hervorbringt, wenn man eine rationelle Anwendung von den Reagentien machen will.

2) Spiritus vom sp. Gew. 0,83 verhält sich gegen die fetten Oele wie Eisessig. Absoluter Alkohol verhält sich im allgemeinen sogar auch quantitativ ähnlich wie Eisessig d. h. die Oele, welche Eisessig etwas reichlicher aufnehmen, nehmen auch Alkohol reichlicher auf. Von den angeführten ätherischen Oelen lösen sich alle in 2 Theilen des Weingeistes ausser Terpentinöl, Wachholderbeeröl und Citronenöl, welche grössere Quantitäten des Lösungsmittels brauchen.

3) Wässrige Chloralhydratlösung.

Da die Anwendung dieses Reagens, dessen ich mich schon Jahre lang bediene, bisher nirgends erwähnt ist, möchte ich hier einige Worte einschalten, die zur allgemeinen Orientirung über dessen Wirkungsweise nöthig sind.

Eine wässerige Chloralhydratlösung wirkt je nach ihrer Concentration sehr verschieden; um deshalb immer dieselben Effecte mit derselben hervorzurufen, muss eine bestimmte Concentration genau inne gehalten werden. Am geeignetsten als Reagens habe ich eine Lösung von 5 Theilen Chloralhydrat in 2 Theilen Wasser gefunden. Diese Mischung kann allerdings nur noch bei etwa 15° C. angewandt werden, da sich bei niederer Temperatur Chloralhydrat ausscheidet. Wie wir sehen werden, verhält sich diese Chloralhydratlösung gegen ätherische und fette Oele fast wie Alkohol, gegen wasserlösliche Kohlehydrate verhält sie sich dagegen ähnlich wie Wasser, und Stärke quellt sie wie Kalilauge. Vorzüglich charakteristisch ist ihr Verhalten gegen Proteinstoffe, welche sie löst oder stark quellt; auch auf Cellulose wirkt sie etwas quellend ein. Da sie Stärke quellt und Jod löst, ohne es zu verändern, bietet eine mit Jod gesättigte Lösung von Chloralhydrat, die man sich herstellt, indem man festes Jod mit Chlorallösung stehen lässt, ein vorzügliches Mittel zum Nachweis von Stärke in den Trophoplasten. Man legt zu dem Zwecke einen Autoplasten enthaltenden Blattschnitt ein paar Minuten in dünne Jodkaliumlösung, trocknet ihn mit Fliesspapier ab, legt ihn unter ein Deckglas und fügt Jodchlorallösung zu. Nach einigen Minuten ist der Blattschnitt farblos, da das Chlorophyll gelöst wird und das Gerüste der Autoplasten verquillt, und die Amylumkörner treten deutlich mit blauer Farbe hervor. Auch als Aufhellungsmittel ist Chlorallösung in manchen Fällen von vorzüglicher Wirkung.

Die wässrige Chloralhydratlösung von der angegebenen Concentration verhält sich nun folgendermassen gegen unsere fetten und ätherischen Oele. Von den ätherischen Oelen sind alle bis auf die reichlicher Terpene enthaltenden mit Chlorallösung mischbar; von Terpentinöl, Wachholderbeeröl, Citronenöl und Rosmarinöl genügt dagegen schon ein Tropfen, um 5 cc der Chlorallösung zu trüben. Von allen untersuchten fetten Oelen mischen sich nur Ricinusöl, Arachisöl, Sesamöl und Leinöl mit der Chlorallösung.

4) Concentrirte Kalilauge, aus 1 Theil Kaliumhydroxyd und 1,5 Theilen Wasser hergestellt, löst die fetten und ätherischen Oele nicht.

5) Verdünnte Kalilauge, aus 1 Theil Kaliumhydroxyd und 9 Theilen Wasser hergestellt, verhält sich gegen die Oele wie das vorige Reagens.

6) Chloroform (sp. Gew. 1,495) mischt sich mit den fetten und den ätherischen Oelen.

7) Petroleumäther (Siedepunkt 60° C.) verhält sich wie Chloroform.

8) Aether (alkoholfrei und mit Wasser gesättigt) verhält sich gegen fette und ätherische Oele wie Chloroform.

9) Eine Temperatur von 130° C. genügt, um aus dünnen Schnitten alles ätherische Oel zu verjagen; das fette Oel bleibt dabei zurück. Man erhitzt die frischen Schnitte, ohne sie mit einem Deckglas zu bedecken, in einem Wärmkasten (Luftbade) von constanter Temperatur 10 Minuten auf 130° C. Nach dieser Operation betrachtet man die Schnitte, indem man sie in Wasser oder Chlorallösung legt.

10) Ueberosmiumsäurelösung (1 + 49 Wasser) bräunt oder schwärzt ätherische und vorzüglich auch fette Oele sofort. Terpentinöl, welches mit Ueberosmiumsäure 5 Minuten behandelt

worden war, löste sich noch völlig in Aether; Mandelöl, in gleicher Weise behandelt, war zum grössten Theil in Aether unlöslich geworden. Mit Ueberosmiumsäure behandeltes Ricinusöl löste sich nur sehr langsam im Chloral.

11) Concentrirte Salzsäure verändert ätherische und fette Oele nicht wesentlich.

Da die sogenannten Oeltropfen der Autoplasten einer ganzen Reihe von Musaceen durch Briosi's Untersuchung am längsten bekannt sind, so wollen wir ein Beispiel dieser zuerst mit unseren Reagentien untersuchen und dann erst die neu aufgefundenen analogen Fälle solcher Einschlüsse bezüglich ihres Verhaltens prüfen.

Briosi fand sogenannte Oeltropfen bei *Strelitzia Nicolai*, *ovata*, *Reginae*, *farinosa*, *Augusta*, *Princeps* und bei *Musa coccinea*, *Tacca hort.*, *paradisiaca*, *Sapientum* (53, p. 531). Ich habe ähnliche Einschlüsse auch in den Autoplasten folgender Monocotyledonen gefunden: *Bromelia Ananas*, *Billbergia Quesneliana* und *pyramidata*, *Pitcairnia albucaefolia*, *Hohenbergia strobilacea*, *Dracaena fragrans* und *umbraculifera*, *Agave lurida*.

Uebrigens führt auch Wiesner in seiner Notiz über das Hypochlorin (49, p. 2) für *Billbergia iridifolia* und *Reineckia carnea* ölartige Einschlüsse in den Autoplasten an, so dass das Auftreten stark lichtbrechender tröpfchenartiger Massen in den Autoplasten bei den Monocotyledonen ziemlich verbreitet zu sein scheint.

Betrachten wir also zunächst die Oeltröpfchen führenden Autoplasten von *Strelitzia Reginae*.

Wie schon Briosi richtig beobachtete, finden sich die Kügelchen, wie wir die stark lichtbrechenden, kugelförmigen Massen kurz nennen, welche wir näher untersuchen wollen, hauptsächlich in älteren Blättern von *Strelitzia* (53, p. 532). Junge Blätter führten im Juni in ihren Autoplasten keine Kügelchen, sondern sehr kleine, mit der Jodchloralreaction nachweisbare Stärkekörnchen oder waren auch stärkefrei. Es hängt, wie schon Godlewski annimmt, wohl nur von den mehr oder weniger günstigen Vegetationsbedingungen ab, ob in den Autoplasten der jungen Blätter Stärke auftritt oder nicht; die Autoplasten älterer Blätter, welche immer Kügelchen enthalten, scheinen niemals Stärke zu führen.

Die Kügelchen der Autoplasten älterer Blätter verhalten sich nun folgendermassen gegen unsere Reagentien.

1) Eisessig löst sie nicht, sondern bewirkt, weil er das Gerüste dehnt, sogar ein stärkeres Hervortreten der Kügelchen.

2) Weingeist löst sie;

3) Chloral löst sie sofort;

4) Concentrirte Kalilauge scheint die Kügelchen zu lösen, doch gestattet die Reaction immer einige Zweifel, da die Autoplasten dabei zu stark verändert werden, so dass die Kügelchen auch hierdurch unsichtbar werden könnten.

8) Aether löst sie sofort. Man behandelt bei Ausführung dieser Reaction die Autoplasten am besten zuerst mit Eisessig und verdrängt diesen durch Aether.

11) Concentrirte Salzsäure löst nicht.

Ausserdem prüfte ich das Verhalten einer Sodalösung (1 + 2 Wasser) und einer gesättigten Kochsalzlösung gegen die Kügelchen; beide Reagentien verändern die Kügelchen nicht.

Die Autoplasten der jüngeren und älteren Blätter von *Agave americana* und eines älteren Blattes von *Agave lurida* fand ich völlig stärkefrei. Das ältere Blatt von *Agave lurida* besass auffallend deutliche Kügelchen in seinen Autoplasten, die ganz denen der *Strelitzia*-Arten glichen. Die Epidermiszellen enthielten um den Zellkern angehäuft eine Anzahl von grossen, stark lichtbrechenden Körpern von tropfenähnlichem Aussehen; andere grosse Tropfen lagen im Protoplasma der Schliesszellen der Spaltöffnungen neben etwas Stärke.

Die Kügelchen von *Agave lurida* verhielten sich bei Ausführung der Reaction 1, 2, 3, 4, 8 ganz

wie die von *Strelitzia*; dagegen verhielten sich die Tropfen der Epidermis und der Spaltöffnungsschliesszellen vollkommen verschieden von diesen. Ich will das Verhalten der drei Körper nebeneinanderstellen.

	Kügelchen	Tropfen der Epidermis	Tropfen der Schliesszellen.
1) Eisessig	unverändert	unverändert	unverändert
2) Weingeist(0,83 sp. G.)	gelöst	gelöst	unverändert
3) Chlorallösung	sofort gelöst	nicht gelöst	unverändert
4) Kalilauge (conc.)	wahrscheinlich gelöst		unverändert
8) Aether	gelöst		sofort gelöst
10) Ueberosmiumsäure	schwachbräunlich	kaum und langsam gefärbt	sofort tiefschwarz.

Nach der Härtung mit Osmiumsäure werden alle drei Körper weder von Kalilauge noch von Chloral oder Aether gelöst.

Billbergia pyramidalis ist ein schönes Beispiel für das Vorkommen der Kügelchen neben Stärkekörnern im Autoplasten. In jungen Blättern fand ich im Juli die Autoplasten mit kleinen Amylumkörnchen gefüllt, Kügelchen konnte ich nirgends sehen. Diese traten vielmehr, wie immer, erst in späteren Altersstadien der Autoplasten auf. Am deutlichsten waren sie in ganz alten, aber noch schön grünen Blättern in den äussersten grünen Parenchymzellen der Oberseite des Blattes zu sehen. Hier fehlte häufig die Stärke ganz, während tiefer liegende Zellen grosse Stärkekörner neben den Kügelchen in den Autoplasten erkennen liessen. Die Autoplasten der ältesten Blätter erschienen häufig sehr transparent und unregelmässig geformt, so dass man nicht zweifeln konnte, dass hier schon degradirte Autoplasten vorlagen; dennoch waren die Kügelchen deutlich vorhanden!

Gegen Reagentien verhielten sich die Kügelchen von *Billbergia* ganz wie die von *Agave*.

Auch *Bromelia Ananas* enthält in den jungen Blättern nur Stärke, niemals deutliche Kügelchen in den Autoplasten. In den älteren Blättern findet man auch hier die Autoplasten der ersten grünen Zellen der Blattoberseite fast stärkefrei und zur Erkennung der Kügelchen sehr geeignet. Die Reactionen der Kügelchen sind dieselben wie diejenigen der *Agave*-Kügelchen.

Was die Structur der Autoplasten aller der Pflanzen anbelangt, bei welchen ich Kügelchen fand, ist zu bemerken, dass alle Autoplasten der jungen Blätter zart aber deutlich die normale körnige Structur zeigten und durch Wasser sehr leicht in normaler Weise (Siehe p. 15 d. A.) vacuolig wurden. Die Autoplasten der älteren Blätter verlieren diese Eigenschaft mehr und mehr und erlangen dafür die Fähigkeit durch die Einwirkung des Wassers homogen zu werden und sich zu dehnen. Ganz alte Autoplasten erscheinen oft im intacten Zustande sehr transparent und gleichsam wie auseinandergeflossen. In Autoplasten von mittlerem Alter sieht man häufig schon in dem ungedehnten Organe deutlich die Körner liegen; doch erscheinen sie hier von einer dunkelgrünen Masse umhüllt und wenig durch ihre Lichtbrechung hervortretend.

Nach der Einwirkung des Wassers dehnen sich die Autoplasten dann sehr stark, und die Kügelchen treten scharf hervor, wie ich es in Fig. 19 für einen Autoplasten von *Bromelia Ananas* gezeichnet habe. Der Grund des stärkeren Hervortretens der Kügelchen liegt, wie schon gesagt, nur in dem Transparentwerden des Autoplasten.

Wenn man schwache Chlorallösung oder Spiritus auf die Autoplasten einwirken lässt, welche Kügelchen enthalten, so sieht man die letzteren gelöst werden und an Stelle derselben eine Vacuole erscheinen, welche dieselbe Form hat wie diejenige, welche nach Auflösung eines Granum zurückbleibt. Da man hie und da neben den Kügelchen, vorzüglich in jüngeren Autoplasten, Grana bemerken kann, so wäre es möglich, dass die Kügelchen innerhalb der Grana lägen und ein Product derselben vorstellten. Die Kügelchen könnten aber eben so gut aus den Grana durch Umwandlung derselben beim Altern der Autoplasten entstanden sein.

Die Frage nach dem physiologischen Werthe der Kügelchen beschäftigt uns hier nicht; bei Abhandlung derselben wäre aber die Entstehung der Kügelchen in älteren Autoplasten, das Vorhandensein derselben in degradirten Autoplasten, das Nichtverschwinden der Kügelchen bei lange dauernder Verdunkelung der Blätter (55) zu berücksichtigen. Von besonderem Interesse für die physiologische Betrachtung dieser Kügelchen wird ausserdem das Resultat sein, welches wir aus den oben beschriebenen Reactionen ableiten können.

Es geht nämlich aus dem Verhalten der Kügelchen mit genügender Gewissheit hervor, dass sie **nicht** aus fettem Oele (im exacten chemischen Sinne) bestehen.

Diese Behauptung stützt sich zuerst auf das Verhalten der Kügelchen gegen Spiritus und Eisessig. Während die fetten Oele, welche von Spiritus gelöst werden, auch mindestens eben so gut in Eisessig löslich sind, werden die Kügelchen äusserst leicht von Weingeist aufgenommen, in dem nur sehr wenige fette Oele löslich sind, von Eisessig aber gar nicht verändert. Ferner schwärzen sich die Kügelchen durch Ueberosmiumsäure nur sehr langsam, während sich fettes Oel sofort mit diesem Reagens tief dunkelbraun oder schwarz färbt.

Wenn die Kalilauge die Kügelchen löst, was zwar nicht sicher, aber wahrscheinlich der Fall ist, so spricht auch diese Reaction gegen die Oelnatur des Körpers. Sehr wichtig für diese Frage scheint mir auch das auf der vorhergehenden Seite für *Agave* mitgetheilte differente Verhalten zwischen den in den Spaltöffnungsschliesszellen vorkommenden Tropfen, welche allen Reactionen und ihrem Vorkommen nach wohl sicher als fettes Oel anzusehen sind, und den Kügelchen.

Auch die Uebereinstimmung der Reactionen der Kügelchen in den verschiedenen Pflanzen, welche annehmen lässt, dass hier überall der gleiche Körper vorliegt, scheint mir gegen die Oelnatur der Kügelchen zu sprechen, da es unwahrscheinlich ist, dass alle diese Pflanzen dasselbe fette Oel enthalten.

Aus welchen chemischen Verbindungen die Kügelchen bestehen, ist vorläufig nicht zu sagen; vielleicht sind die Kügelchen eben so complicirt zusammengesetzt wie das Chlorophyllan und, wie dieses, bei allen Pflanzen gleich zusammengesetzt.

Nun sind nur noch die Seite 5 d. A. erwähnten durch Jod roth werdenden Einschlüsse zu besprechen, welche Sachs auffand. Es sind dies wahrscheinlich durch Ferment veränderte Stärkekörner. Ich habe ein solches Stärkekorn, welches sich mit Jod roth oder braun färben lässt, von *Iris* in Fig. 17 abgebildet. Man findet derartige Einschlüsse der Autoplasten meist leicht in den Blattstielen oder Basaltheilen der Blätter aller derjenigen Pflanzen, welche in den Autoplasten der Blätter unter gewöhnlichen Verhältnissen keine oder wenig Stärke erzeugen. Ich begnüge mich hier mit dieser kurzen Notiz über die fraglichen Einschlüsse, weil ich die letzteren in einer anderen Arbeit näher besprechen muss.

Hiermit wollen wir diese Abhandlung schliessen. Eine Zusammenstellung der Resultate wage ich am Ende derselben nicht zu geben, da mir das meiste, was sich aus dem Gesagten ableiten lässt, zu unsicher scheint, um in kurze Sätze gefasst werden zu können, in denen sich eine Vermuthung leicht wie eine unumstössliche Wahrheit ausnimmt.

Auch will ich darauf hinweisen, dass in der vorliegenden Untersuchung eine Frage keine ausreichende Berücksichtigung gefunden hat, welche erst das rechte Verständniss für die hier beschriebenen Structurverhältnisse erschliessen kann, die Frage nach der Veränderung, welche die Structur der Chlorophyllkörner im Laufe der Entwickelung dieser Organe führt.

Ich glaube aber, dass nun, nachdem ich hier eine Reihe von Structurerscheinungen genauer untersucht habe und auch den Chemismus nach Kräften berücksichtigt habe, dem Bearbeiter der Entwickelungsgeschichte der Autoplasten eine Reihe von Gesichtspunkten vorliegen, von denen aus er das jeweilige Entwickelungsstadium der Autoplasten untersuchen kann, so dass diese Arbeit, obgleich sie den besprochenen Factor nicht besonders berücksichtigte, ihren Nutzen haben wird.

Da wir es vorläufig immer als unsere Aufgabe betrachten müssen, die Structur und den Chemismus der Autoplasten mit der hypothetischen Function derselben in Beziehung zu setzen, so wäre bei einer Untersuchung der verschiedenen Altersstadien eines Autoplasten vorzüglich darauf zu achten, welche sichtbaren Erscheinungen mit den verschiedenen Graden der sich während der Lebenszeit der Zellen durchaus nicht gleichbleibenden assimilatorischen Leistungsfähigkeit der Autoplasten zusammenfallen. Daraus wird sich mit einiger Wahrscheinlichkeit erschliessen lassen, welche Bestandtheile des Autoplasten von der höchsten physiologischen Bedeutung sind.

Verzeichniss der benutzten Literatur.

Die eingeklammerten Zahlen dieser Arbeit beziehen sich auf die Nummern **dieses** Verzeichnisses. Wo im Texte »p. d. A.« steht, bezieht sich die Angabe auf die Seitenzahl dieses Aufsatzes.

16. Hofmeister, Die Lehre von der Pflanzenzelle.
17. Hugo von Mohl, Vermischte Schriften botanischen Inhaltes. Tübingen 1845.
18. Wilhelm Michler, Dissertation. Tübingen 1837.
19. Hugo von Mohl, Botanische Zeitung 1855, p. 89.
20. Julius Sachs, Flora No. 9, 11, 14.
21. Julius Sachs, Flora No. 13, 14.
22. C. Frommann, Beobachtungen über Structur und Bewegungserscheinungen des Protoplasma der Pflanzen. Jena 1880.
23. Julius Sachs, Handbuch der Experimental-Physiologie der Pflanzen. Leipzig 1865.
24. N. Pringsheim, Untersuchungen über Lichtwirkung und Chlorophyllfunction in der Pflanze. Leipzig 1881.
25. Hansen, Geschichte der Assimilation und Chlorophyllfunction. Leipzig 1882.
26. Frank, Sitzb. des bot. Vereins der Prov. Brandenburg. Sitzung v. 24. Febr. 1882, p. 11. Separatabzug.
27. Böhm, Sitzungsbericht der k. Akademie der Wissenschaften, Jahrg. 1856, IV, p. 479.
44. Adolph Weiss, Sitzungsbericht d. k. Akademie der Wissenschaften, Wien, Jahrg. 1866, 54. Bd.
48. N. Pringsheim, Pringsheim's Jahrb. für wissensch. Botanik, Bd. XIII, Heft 3, 1882.
49. J. Wiesner, Botanisches Centralblatt 1882, No. 20. Bemerkungen über die Natur des Hypochlorins.
53. Giovanni Briosi, Botanische Zeitung 1873, No. 34 und 35.
54. Godlewski, Flora 1877, p. 215.
55. Holle, Flora 1877, p. 113.
56. Arthur Meyer, Ueber die Natur des Hypochlorins; Botanische Zeitung 1882.
57. Hoppe-Seyler, Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. III, Heft 5.
59. Hoppe-Seyler, Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. II, p. 75, 1881.
60. V. A. Poulsen, Botanische Mikrochemie. Cassel 1881.

Beschreibung der Figuren.

Alle Figuren sind bei 1100facher Vergrösserung gezeichnet.

Figur

4. *a* Chlorophyllankrystalle, durch kalten Eisessig erhalten; *b* ein ausserhalb der Zelle gewachsener Krystall.
5. Zelle aus dem Blattparenchym von *Iris germanica* nach 24stündiger Behandlung mit Salzsäure (1 Salzsäure + 4 Wasser), *c* Chlorophyllankrystalle, *g* grüne Tropfen.
6. *k* Chlorophyllankrystall aus kaltem Eisessig, *o* Rest (kleiner Tropfen), welcher nach Behandlung des Krystalls mit Chlorallösung blieb.
7. Chlorophyllankrystall aus heissem Eisessig, an einer Zellwand sitzend.
8. Rest eines Chlorophyllankrystalls aus kaltem Eisessig nach Behandlung des ersteren mit Bromwasser.
9. Rest eines mit Quecksilberchlorid gehärteten und mit Aether extrahirten Chlorophyllankrystalls (Hoppe-Seyler's Präparat).
10. Autoplast aus der Knolle von *Acanthephippium* (1. April 1882), *K* Krystalloid, *S* Stärkekorn, *P* Granum.
11. Wirkung des Wassers auf einige Grana des Autoplasten von *Acanthephippium*; *a*, *b*, *c* successive Stadien der Wasserwirkung. Bei *b* und *c* dient der Autoplastenpartie ein Stück eines Stärkekornes als Unterlage. Bei tiefer Einstellung gezeichnet.
12. Wirkung der Chlorallösung auf die Grana des Autoplasten von *Acanthephippium*. Bei hoher Einstellung gezeichnet.
13. Gerüste eines Autoplasten der Knolle von *Acanthephippium*, durch Extraction des Autoplasten mittels Alkohol erhalten.
14. Intacte Autoplasten aus dem Blattparenchym von *Acanthephippium*. Hohe Einstellung.
15. Durch Einwirkung von Wasser veränderter Autoplast aus dem Blattparenchym von *Acanthephippium*. Hohe Einstellung.
16. Stärkefreie Autoplasten aus dem Blattparenchym von *Vallisneria spiralis*, *a* bei tiefer, *b* bei hoher Einstellung gezeichnet.
17. Autoplast aus dem Blattparenchym von *Iris germanica* durch Wasserwirkung homogen geworden, der Stärkeeinschluss durch sehr dünnes Iodwasser roth gefärbt.
18. Autoplast des Blattparenchyms von *Adoxa moschatellina* aus mit Wasser behandelten Zellen, bei hoher Einstellung gezeichnet; *a* vacuoliger Autoplast, *b* homogen gewordener Autoplast; an *a* sieht man eine Vacuole, welche mit stark lichtbrechender Flüssigkeit gefüllt ist, auftreten.
19. Ein Autoplast aus dem Blattparenchym von *Bromelia Ananas*, durch Einwirkung des Wassers gedehnt und homogen geworden, bei hoher Einstellung gezeichnet. Der grosse Einschluss ist Stärke; die kleinen Körner sind sogenannte Oeltröpfchen.

Curriculum vitae.

Geboren wurde ich, Paul Arthur Meyer, Sohn des Lehrers Julius Meyer und seiner Frau Caroline geb. Leser, am 17. März 1850 zu Langensalza. Ich besuchte zuerst das Gymnasium, dann die Realschule zu Sondershausen. Während des Winterhalbjahres 1877/78 studirte ich in Leipzig, wo ich Vorlesungen bei den Herren Professoren und Privatdocenten Schenk, Kolbe, Carstanjen, E. v. Meyer, Radius und Hermann hörte und ging dann nach Strassburg, um mich zur pharmaceutischen Staatsprüfung vorzubereiten, welche ich im Wintersemester 1879/80 bestand. Während meines Aufenthaltes an der Universität Strassburg hörte ich Vorlesungen bei den Herren Professoren: de Bary, Fittig, Flückiger, Göbel, Groth, Kunth, Schimper, Schmidt, Stahl, Zacharias und arbeitete im chemischen, pharmaceutischen und physikalischen Laboratorium unter Leitung der Herren Professoren: Fittig, Rose, Flückiger und Kundt.

Allen meinen hochverehrten Lehrern spreche an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank aus, besonders noch dem Herrn Professor de Bary und dem Herrn Professor Flückiger, denen ich mich für die vielfache Unterstützung, die sie mir bei allen meinen Arbeiten zu Theil werden liessen, zu grösstem Danke verbunden fühle.

Taf. I.

Arthur Meyer del.

C.F. Schmidt lith.